

## 特集Ⅱ 低分子抗炎症薬

### 3. Syk 阻害薬

羽溪朋子 定 清直

Hatani Tomoko, Sada Kiyonao

福井大学医学部 微生物学

#### 要旨

Syk (Spleen Tyrosine Kinase)は脾臓から単離された非受容体型チロシンキナーゼで、マスト細胞の活性化や、マクロファージのファゴサイトーシス、さらにB細胞の分化に不可欠な役割を担っている。さらにある種の癌や自己免疫疾患、ウイルス感染との関連も明らかになってきた。近年、新しいSyk阻害剤がトピックスになっており、アレルギー性鼻炎や慢性関節リウマチの治療に対する有効性が注目されている。本稿ではまずSykについて構造と機能を中心に紹介し、これまで報告されてきたSyk阻害剤とその現状について概説したい。

#### [キーワード]

Syk、チロシンキナーゼ、R112、R406、フォスタマチニブ

#### はじめに～Sykとは何か

1980年代中頃より、福井医科大学の第2生化学講座(山村博平教授・当時)では、新しい非受容体型チロシンキナーゼの探索プロジェクトが進められていた。 $E_{11}G_1$ や(Val<sup>5</sup>)アンギオテンシンIIなど基質ペプチドのチロシンリン酸化能を指標に、複数のイオン交換樹脂やアフィニティークロマトグラフィーを用いて酵素タンパク質を精製し、生化学的性質を精密に比較することにより、新しいチロシンキナーゼの同定を目指していた。このプロジェクトでは、ブタ脾臓を出発材料としたことが特徴であった。B細胞を有する巨大な臓器である脾臓は、当時チロシンキナーゼの研究目的では誰も手を付けておらず、その後発見される新規チロシンキナーゼ(後のSyk)の生理的な役割を予見させるものがあつた。

部分精製されたチロシンキナーゼが既知のものとは異なる基質特異性やイオン要求性を示すことが明かとなり<sup>1</sup>、筆者の一人(定)も当時医学生としてこのプロジェクトに携わった。精製蛋白質から部分的なアミノ酸配列が同定され、そ

れをもとに 1991 年について cDNA がクローニングされ、2 つの SH2 ドメインを持つユニークな構造で、全長が 72 kDa の新規チロシンキナーゼであることが明らかとなった。こうして新規チロシンキナーゼの発見に向けたプロジェクトは実を結び、脾臓から単離された過程に因み、p72<sup>syk</sup> (Syk は spleen tyrosine kinase のそれぞれ頭文字から取られた)と命名された<sup>2</sup>。翌 1992 年には Syk と高い相同性を持ち、T細胞とNK細胞に発現する ZAP-70が米国のグループにより報告され、Syk がサブファミリーを形成していることが明らかとなった<sup>3</sup>

### Syk の構造と機能

Syk の構造を図 1 に示す。アミノ末端より 2 つの SH2 ドメインとキナーゼドメインを持ち、それぞれがインタードメインにより区切られている。Syk ファミリーに属するチロシンキナーゼ(Syk と ZAP-70)の 2 つの SH2 ドメインはいずれも免疫系の受容体サブユニットの細胞内領域に共通する ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)に会合する。Syk と ZAP-70 の SH2 ドメインは、それぞれの免疫受容体の ITAM に対して異なる親和性を示し、かつ Syk と ZAP-70 ではアミノ末端の SH2 ドメインの構造も僅かではあるが異なっている<sup>4,5</sup>。また ZAP-70 に比べて、Syk の SH2 ドメインは複数の立体構造を取ることが可能であり、Syk が多様な受容体に会合し活性化するメカニズムの一つであると考えられている。2 つの SH2 ドメインを繋ぐインタードメイン A はコイルドコイル構造で、2 つの SH2 ドメインが ITAM にフィットするためのファインチューニングを行っていると考えられている。



<図 1. Syk の構造>

Syk には 10 箇所の自己リン酸化部位が想定されており、それぞれが生理的役割を担っている。中でも Syk のキナーゼドメインにある活性化ループ上の 2 箇所のチロシン残基(Tyr<sup>525</sup>、Tyr<sup>526</sup>)は Syk のキナーゼ活性に特に重要であり、補酵素である ATP の結合部位(Arg<sup>402</sup>)付近に位置する<sup>6</sup>。ZAP-70 の場合、キナーゼドメインの 2 つのチロシン残基のうち、カルボキシ末端側のチロシン残基は Src ファミリーチロシンキナーゼによりリン酸化される必要がある。このことは

ZAP-70 の活性化が上流の Src ファミリーチロシンキナーゼの活性化に依存していることを示している。

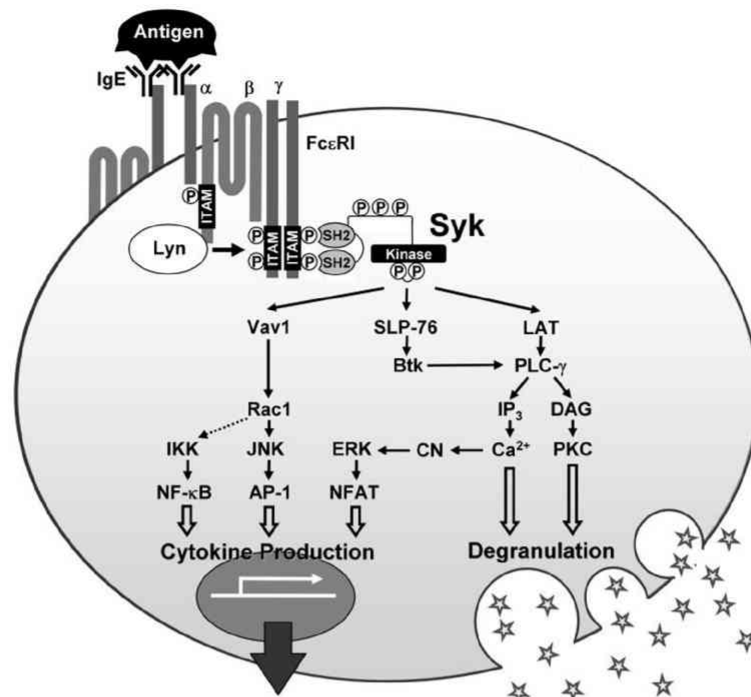
SH2 とキナーゼドメインを繋ぐリンカー領域(インタードメイン B)には 5 箇所のチロシンリン酸化部位がある。そのうちの 3 つ(Tyr<sup>323</sup>、Tyr<sup>348</sup>、Tyr<sup>352</sup>)については生理的な役割が明かとなっている。なかでも Tyr<sup>323</sup> は Cbl 型ユビキチンリガーゼとの会合により、Syk のキナーゼ活性の負の調節に関与すると考えられている<sup>7</sup>。また Tyr<sup>348</sup>、Tyr<sup>352</sup> はともに脱顆粒や細胞内シグナル伝達に重要である(Tyr<sup>348</sup> > Tyr<sup>352</sup>)<sup>8,9</sup>。これらリンカー領域のチロシン残基は Src ファミリーキナーゼの Lyn によってリン酸化されるが<sup>10</sup>、Syk による自己リン酸化も否定は出来ない。

Syk のリンカー領域は動物間での相同性が最も低い領域である。リンカー領域のアミノ酸配列の一部を抗原として作成した初期のポリクローナル抗体は、ブタ Syk に特異的であり、ヒトやマウスの Syk を認識しなかった。同様に、現在市販されている抗 Syk 抗体についても、リンカー領域のアミノ酸配列を抗原として作られたものの中には、動物種により反応性が異なるものがあるため、実験には注意を要する。

Syk は自己リン酸化部位が多く、非イオン性のマイルドな界面活性剤により受容体などに会合した細胞膜画分の Syk も容易に回収されるため、免疫沈降法による *in vitro* キナーゼアッセイ(酵素活性測定)が容易である。そのため、多くの受容体刺激に対する Syk の活性化が報告された。マスト細胞高親和性 IgE 受容体(FcεRI)、ファゴサイトの Fcγ受容体、B 細胞抗原受容体、トロンビン受容体、コラーゲン受容体、更には浸透圧ストレスなどを介して、Syk が活性化することが次々に明かとなった<sup>11,12</sup>。Syk 欠損マウスは出血により生後間もなく死亡するが、造血系細胞とのキメラマウスの解析から、Syk が Pro-B 細胞から Pre-B 細胞への分化に必要であることが明かとなった<sup>13,14</sup>。また出血の原因としては血小板の凝集機能障害や、血管内皮細胞の分化異常が関与すると考えられる<sup>15,16</sup>。Syk の欠損は破骨細胞の機能異常も引き起こすことが報告されている<sup>17</sup>。更にある種の癌においては Syk の発現が癌抑制因子として働いていることも明らかにされている<sup>18,19</sup>。C 型肝炎ウイルスが感染した肝細胞においては、NS5A (C 型肝炎ウイルスの非構造タンパク質の一つ)が Syk に会合し、その活性を抑制することも明かとなった<sup>20</sup>。最近では慢性関節リウマチや SLE の病態との関連が指摘されている<sup>21,22</sup>。

## マスト細胞の活性化と Syk の役割

マスト細胞の活性化における Syk の役割については既に詳細が解明されており、阻害剤を試験する上で非常に有用なシステムである(図 2)<sup>23,24</sup>。



<図 2 マスト細胞のシグナル伝達と Syk>

マスト細胞上で IgE に感作された FcεRI が多価の抗原により凝集すると、FcεRI のβ鎖に会合する Lyn が受容体γ鎖の ITAM のチロシン残基をリン酸化し、Syk が 2 つの SH2 領域を介して結合する。この結合により、Syk は高次構造が変化し、基質との結合が可能となると考えられている。受容体に会合した Syk はγ鎖の凝集による自己リン酸化により活性化する。このように、FcεRI の凝集は、Lyn から Syk へのシーケンシャルな活性化を引き起こす。活性化した Syk は、アダプター蛋白質 LAT (linker for activation for T cells)、SLP-76 (SH2-containing leukocyte phosphoprotein of 76 kDa)、3BP2 (c-Abl SH3 domain-binding protein-2)、グアニンヌクレオチド交換因子 Vav1、PLC (ホスホリパーゼ C)-γ1、-γ2 のチロシンリン酸化、細胞内 Ca<sup>2+</sup>動員機構、さらにこれらの分子の下流に位置する、JNK、ERK などの MAP キナーゼの活性化を介して、細胞機能として脱顆粒によるヒスタミン放出やサイトカイン産生、アラキドン酸代謝産物の放出を引き起こす。これら一連のシグナル伝達にはチロシンキナーゼとしての Syk の活性が必要である<sup>7</sup>。

Fcε受容体を介するシグナル伝達における Syk の活性化機構と生理的役割は、Fcγ受容体を介する生理機能においても同様であると考えられる。すなわち、Syk は I 型のみならず II 型アレルギー応答に重要な役割を果たしていると言える。

## Syk 阻害剤

治療目的の Syk 阻害薬開発の試みは、当初アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) と低分子化合物の阻害剤の探索という 2 つの方法が採られてきた。60 mer の長さのステム・ループ型 ASO とリボソームの混合物をエアロゾルにしてラットに吸入させたところ、肺胞マクロファージにおける Syk の蛋白質発現が抑制され、Fcγ受容体を介する TNF-αや NO 産生が抑制された<sup>25</sup>。また、気管支喘息モデル動物を用いた解析により、Syk ASO が抗原刺激によるアレルギー性炎症を抑制することも示された<sup>26</sup>。これらの研究成果は Syk の発現を抑制することがアレルギー応答を改善する上で有効なアプローチ方であることを示した。

チロシンキナーゼの一般的な阻害剤としては、ATP 結合部位に結合するもの (genistein など) や基質結合部位に結合するもの (tyrphostin など) がある。Syk の阻害剤としては以下の物質が報告されている。

**ピスエタノール (Piceatannol)** (3,4,3',5'-tetrahydroxy-*trans*-stilbene): 1994 年に最初に記載された Syk の阻害剤である ( $IC_{50} = 10 \mu M$ )<sup>27</sup>。ピスエタノールはマスト細胞において、FcεRI を介する  $IP_3$  産生やセロトニン分泌、細胞の形態変化を抑制し、Lyn ではなく Syk を阻害する。Syk の特異的阻害剤との記載が現在でも多くの文献で見られるが、血小板では別のチロシンキナーゼ FAK と Src を阻害し<sup>28</sup>、T 細胞では Jak1 を阻害する<sup>29</sup>。さらに PKC や PKA などのセリン・スレオニンキナーゼを阻害することも報告されている<sup>30</sup>。

**ER-27319** (3,4-dimethyl-10-(3-aminopropyl)-9-acridone oxalate): 1997 年に報告された Syk の阻害薬で、FcεRI を介する Syk のキナーゼ活性 ( $IC_{50} = 10 \mu M$ ) や脱顆粒を抑制するが、Lyn の活性は抑制しない<sup>31</sup>。

今世紀にはいり、より強力な Syk 阻害剤が開発された。

**オキシンドール (Oxindoles)**: オキシンドール化合物には Syk の阻害剤としての性質を持つものが複数有り、なかでも sulfonamide 31 (3-(1-Methyl-1H-indol-3-yl-methylene)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-indole-5-sulfonamide) が最も強力に阻害する ( $IC_{50} = 14 \text{ nM}$ )<sup>32</sup>。ラットマスト細胞の脱顆粒を抑制するとの情報もある ( $IC_{50} = 313 \text{ nM}$ )。商品名 Spleen Tyrosine Kinase Inhibitor。

**BAY 61-3606** (2-[7-(3,4-dimethoxyphenyl)-imidazo[1,2-c]pyrimidin-5-ylamino]-nicotinamide dihydrochloride): イミダゾピリミジン化合物で、Syk の阻害剤である ( $IC_{50} = 10 \text{ nM}$ )。酵素学的な解析が行われており、ATP に対して可逆的な阻害を示す ( $V_{max}$  は不変)。マスト細胞の脱顆粒、サイトカイン産生、脂質メディエーター放出を全てブロックする。Syk の活性を抑制するが、Lyn、Fyn、Src、Itk、Btk のチロシンキナーゼ活性を約 500 倍高濃度 ( $4.7 \mu M$ ) までは抑制しない。モデル動物への経口投与により、抗原によるアレルギー炎症反応を抑制することが報告されている<sup>33</sup>。商品名 Syk Inhibitor IV。

ナフチリジン (Naphthyridines): 2003 年に 5,7-disubstituted[1,6]naphthyridines の構造活性相関についての報告があるが、医生物学的効果については不明である<sup>34</sup>。

ピリミジン-5-カルボキサミド誘導体: 2005 年に 4-anilinopyrimidine-5-carboxamide derivatives について報告があり、ZAP-70、Itk、Btk に対する特異性が検討されている<sup>35</sup>。

ニトロスチレン可能物: 3,4-Methylenedioxy-b-nitrostyrene が Syk のキナーゼ活性を阻害し( $IC_{50} = 2.5 \mu M$ )、その 10 倍の濃度では Src のキナーゼ活性も阻害する。様々なリガンドによる血小板凝集を阻害する<sup>36</sup>。商品名 Syk Inhibitor III。

以上の Syk 阻害剤はいずれも臨床治験のレベルにまでは到達していない。

### 新しい Syk 阻害剤

臨床応用への過程においては、分子レベルでの Syk 阻害効果についての生化学的データは、必ずしも実際の生細胞内の状態を反映しないことがあり、広範な酵素阻害についての生化学的データがさほど重要ではないのではないかと懸念が示されている<sup>37</sup>。近年、細胞レベルでの阻害、具体的には細胞内基質タンパク質のチロシンリン酸化の阻害を指標とするアプローチにより、新しい Syk の阻害剤が開発され、臨床応用が目前に迫っている。

R112: 2-4 ジアミノピリミジンの一つとして、ヒトマスト細胞を用いた実験系より、Syk 阻害剤として開発された<sup>38</sup>。IgE を介するヒスタミン放出を抑制し( $EC_{50} = 0.28 \mu M$ )、アラキドン酸代謝物やサイトカイン放出も抑制する。Syk のキナーゼ活性の抑制は、マスト細胞における Syk の生理的基質のリン酸化(LAT の Tyr<sup>191</sup>)により確かめられた。また上流の Lyn への影響はその基質である FcεRI のγ鎖の ITAM のリン酸化を調べる事により否定されている。また他の細胞に対する影響や、ZAP-70 に対する影響も検討され、その選択性が明かとなっている。精製した Syk に対する阻害様式は ATP との競合阻害である( $IC_{50} = 226 \text{ nM}$ , *in vitro* キナーゼアッセイによる)。急性アレルギー性鼻炎症状の治療に有効であると考えられており、R112 は Syk 阻害剤としてはじめて臨床研究にまで進んだ薬剤である<sup>39</sup>。

R406: ヒトマスト細胞を用いた実験系で Syk の阻害剤として開発され( $EC_{50} = 43 \text{ nM}$ )、R112 同様に、ATP との競合阻害剤である<sup>40</sup>。経口投与が可能である。リウマチの患者では滑膜細胞における Syk のリン酸化が亢進していることが見出され、培養したリウマチの滑膜細胞を用いた実験により、R406 が TNFα による JNK(c-Jun N-terminal kinase)の活性化や MMP3(matrix metalloproteinase 3)の遺伝子発現を抑制することが明かにされた<sup>21</sup>。モデル動物実験においても有用性と安全性が確かめられ、慢性関節リウマチのような自己免疫疾患での有用性が示



唆されている<sup>41</sup>。また B 細胞受容体を介するシグナル伝達を抑制することも報告されている<sup>42</sup>。

**R788 フォスタマチニブ(fostamatinib disodium):** R406 のプロドラッグで、経口 Syk 阻害薬である。ループスのモデル動物で効果があることや<sup>43</sup>、慢性関節リウマチの治療にも有効であることが報告されている<sup>44</sup>。ごく最近では、突発性血小板減少性紫斑病(ITP)に対する有効性が報告され、Fcγ受容体を介するマクロファージの食作用を抑制すると考えられる<sup>45</sup>。また、論文での報告はないが、I 型糖尿病やある種のリンパ腫の治療薬としての可能性が指摘されている。

## おわりに

チロシンキナーゼ Syk は様々な生体内の現象を司る非常に重要な分子である。特にマスト細胞の活性化に関与する Fcε受容体、ファゴサイトーシスを司る Fcγ受容体、B 細胞抗原受容体を介する細胞応答には不可欠の役割を担っており、同時に関連する疾患の分子標的治療の観点からは、最も核心的な分子であると言える。しかしながら、Syk の幅広い機能のために、薬剤投与による血小板凝集阻害や免疫不全による易感染性が懸念され、副作用への十分な注意が必要であると考えられる。

## 文献

### Reference List

1. Sakai, K. *et al.* Characterization of partially purified cytosolic protein-tyrosine kinase from porcine spleen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **152**, 1123-1130 (1988).
2. Taniguchi, T. *et al.* Molecular cloning of a porcine gene *syk* that encodes a 72-kDa protein-tyrosine kinase showing high susceptibility to proteolysis. *J. Biol. Chem.* **266**, 15790-15796 (1991).
3. Chan, A.C., Iwashima, M., Turck, C.W. & Weiss, A. ZAP-70: a 70 kd protein-tyrosine kinase that associates with the TCR zeta chain. *Cell* **71**, 649-662 (1992).
4. Hatada, M.H. *et al.* Molecular basis for interaction of the protein tyrosine kinase ZAP-70 with the T-cell receptor. *Nature* **377**, 32-38 (1995).

5. Futterer,K., Wong,J., Grucza,R.A., Chan,A.C. & Waksman,G. Structural basis for Syk tyrosine kinase ubiquity in signal transduction pathways revealed by the crystal structure of its regulatory SH2 domains bound to a dually phosphorylated ITAM peptide. *J. Mol. Biol.* **281**, 523-537 (1998).
6. Kurosaki,T. *et al.* Role of the Syk autophosphorylation site and SH2 domains in B cell antigen receptor signaling. *J. Exp. Med.* **182**, 1815-1823 (1995).
7. Sada,K., Zhang,J. & Siraganian,R.P. Point mutation of a tyrosine in the linker region of Syk results in a gain of function. *J. Immunol.* **164**, 338-344 (2000).
8. Zhang,J., Berenstein,E. & Siraganian,R.P. Phosphorylation of Tyr<sup>342</sup> in the linker region of Syk is critical for Fc-epsilon RI signaling in mast cells. *Mol. Cell. Biol.* **22**, 8144-8154 (2002).
9. Simon,M., Vanes,L., Geahlen,R.L. & Tybulewicz,V.L. Distinct roles for the linker region tyrosines of Syk in FcεRI signaling in primary mast cells. *J. Biol. Chem.* **280**, 4510-4517 (2005).
10. Keshvara,L.M. *et al.* Syk- and Lyn-dependent phosphorylation of Syk on multiple tyrosines following B cell activation includes a site that negatively regulates signaling. *J. Immunol.* **161**, 5276-5283 (1998).
11. Sada,K., Takano,T., Yanagi,S. & Yamamura,H. Structure and function of Syk protein-tyrosine kinase. *J. Biochem. (Tokyo)* **130**, 177-186 (2001).
12. Tohyama,Y. & Yamamura,H. Protein tyrosine kinase, syk: a key player in phagocytic cells. *J. Biochem.* **145**, 267-273 (2009).
13. Turner,M. *et al.* Perinatal lethality and blocked B-cell development in mice lacking the tyrosine kinase Syk. *Nature* **378**, 298-302 (1995).
14. Cheng,A.M. *et al.* Syk tyrosine kinase required for mouse viability and B-cell development. *Nature* **378**, 303-306 (1995).
15. Poole,A. *et al.* The Fc receptor gamma-chain and the tyrosine kinase Syk are essential for activation of mouse platelets by collagen. *EMBO J.* **16**, 2333-2341 (1997).
16. Yanagi,S. *et al.* Syk expression in endothelial cells and their morphologic defects



in embryonic Syk-deficient mice. *Blood* **98**, 2869-2871 (2001).

17. Mocsai, A. *et al.* The immunomodulatory adapter proteins DAP12 and Fc receptor  $\gamma$ -chain (FcR $\gamma$ ) regulate development of functional osteoclasts through the Syk tyrosine kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **101**, 6158-6163 (2004).
18. Coopman, P.J. *et al.* The Syk tyrosine kinase suppresses malignant growth of human breast cancer cells. *Nature* **406**, 742-747 (2000).
19. Bailet, O. *et al.* Spleen tyrosine kinase functions as a tumor suppressor in melanoma cells by inducing senescence-like growth arrest. *Cancer Res.* **69**, 2748-2756 (2009).
20. Inubushi, S. *et al.* Hepatitis C virus NS5A protein interacts with and negatively regulates the non-receptor protein tyrosine kinase Syk. *J. Gen. Virol.* **89**, 1231-1242 (2008).
21. Cha, H.S. *et al.* A novel spleen tyrosine kinase inhibitor blocks c-Jun N-terminal kinase-mediated gene expression in synoviocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **317**, 571-578 (2006).
22. Krishnan, S. *et al.* Differential expression and molecular associations of Syk in systemic lupus erythematosus T cells. *J. Immunol.* **181**, 8145-8152 (2008).
23. Sada, K. & Yamamura, H. Protein-tyrosine kinases and adaptor proteins in Fc $\epsilon$ RI signaling in mast cells. *Curr. Mol. Med.* in press (2003).
24. Siraganian, R.P. Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Curr. Opin. Immunol.* **15**, 639-646 (2003).
25. Stenton, G.R. *et al.* Aerosolized Syk antisense suppresses Syk expression, mediator release from macrophages, and pulmonary inflammation. *J. Immunol.* **164**, 3790-3797 (2000).
26. Stenton, G.R. *et al.* Inhibition of allergic inflammation in the airways using aerosolized antisense to Syk kinase. *J. Immunol.* **169**, 1028-1036 (2002).
27. Oliver, J.M., Burg, D.L., Wilson, B.S., McLaughlin, J.L. & Geahlen, R.L. Inhibition of mast cell Fc $\epsilon$ RI-mediated signaling and effector function by the Syk-selective inhibitor, piceatannol. *J. Biol. Chem.* **269**, 29697-29703 (1994).

28. Law,D.A. *et al.* Genetic and pharmacological analyses of Syk function in  $\alpha_{IIb}\beta_3$  signaling in platelets. *Blood* **93**, 2645-2652 (1999).
29. Su,L. & David,M. Distinct mechanisms of STAT phosphorylation via the interferon- $\alpha/\beta$  receptor. Selective inhibition of STAT3 and STAT5 by piceatannol. *J. Biol. Chem.* **275**, 12661-12666 (2000).
30. Wang,B.H., Lu,Z.X. & Polya,G.M. Inhibition of eukaryote serine/threonine-specific protein kinases by piceatannol. *Planta Med.* **64**, 195-199 (1998).
31. Moriya,K. *et al.* ER-27319, an acridone-related compound, inhibits release of antigen-induced allergic mediators from mast cells by selective inhibition of Fc $\epsilon$  receptor I-mediated activation of Syk. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **94**, 12539-12544 (1997).
32. Lai,J.Y. *et al.* Potent small molecule inhibitors of spleen tyrosine kinase (Syk). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**, 3111-3114 (2003).
33. Yamamoto,N. *et al.* The orally available spleen tyrosine kinase inhibitor 2-[7-(3,4-dimethoxyphenyl)-imidazo[1,2-c]pyrimidin-5-ylamino]nicotinamide dihydrochloride (BAY 61-3606) blocks antigen-induced airway inflammation in rodents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **306**, 1174-1181 (2003).
34. Cywin,C.L. *et al.* Discovery and SAR of novel Naphthyridines as potent inhibitors of spleen tyrosine kinase (SYK). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**, 1415-1418 (2003).
35. Hisamichi,H. *et al.* Synthetic studies on novel Syk inhibitors. Part 1: Synthesis and structure-activity relationships of pyrimidine-5-carboxamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **13**, 4936-4951 (2005).
36. Wang,W.Y., Wu,Y.C. & Wu,C.C. Prevention of platelet glycoprotein IIb/IIIa activation by 3,4-methylenedioxy-beta-nitrostyrene, a novel tyrosine kinase inhibitor. *Mol. Pharmacol.* **70**, 1380-1389 (2006).
37. Masuda,E.S. & Schmitz,J. Syk inhibitors as treatment for allergic rhinitis. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **21**, 461-467 (2008).
38. Rossi,A.B. *et al.* Identification of the Syk kinase inhibitor R112 by a human mast

cell screen. *J. Allergy Clin. Immunol.* **118**, 749-755 (2006).

39. Meltzer,E.O., Berkowitz,R.B. & Grossbard,E.B. An intranasal Syk-kinase inhibitor (R112) improves the symptoms of seasonal allergic rhinitis in a park environment. *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**, 791-796 (2005).
40. Matsubara,S. *et al.* Inhibition of spleen tyrosine kinase prevents mast cell activation and airway hyperresponsiveness. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* **173**, 56-63 (2006).
41. Pine,P.R. *et al.* Inflammation and bone erosion are suppressed in models of rheumatoid arthritis following treatment with a novel Syk inhibitor. *Clin. Immunol.* **124**, 244-257 (2007).
42. Chen,L. *et al.* SYK-dependent tonic B-cell receptor signaling is a rational treatment target in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **111**, 2230-2237 (2008).
43. Bahjat,F.R. *et al.* An orally bioavailable spleen tyrosine kinase inhibitor delays disease progression and prolongs survival in murine lupus. *Arthritis Rheum.* **58**, 1433-1444 (2008).
44. Weinblatt,M.E. *et al.* Treatment of rheumatoid arthritis with a Syk kinase inhibitor: a twelve-week, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* **58**, 3309-3318 (2008).
45. Podolanczuk,A., Lazarus,A.H., Crow,A.R., Grossbard,E. & Bussel,J.B. Of mice and men: an open-label pilot study for treatment of immune thrombocytopenic purpura by an inhibitor of Syk. *Blood* **113**, 3154-3160 (2009).